

KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PELARUT FOSFAT UNTUK MENINGKATKAN KETERSEDIAAN P PADA MEDIA KULTUR CAIR TANAMAN JAGUNG (*Zea mays* L.)

Setiawati, M.R., Suryatmana, P., Hindersah, R., Fitriatin, B.N. dan Herdiyantoro, D.

Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran Jl. Raya Bandung Sumedang Km 21 Jatinangor
E-mail: miekesetiawati@yahoo.com

ABSTRAK

Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) adalah bakteri yang berperan dalam proses mineralisasi senyawa P organik menjadi P anorganik dan meningkatkan fosfat tersedia. Kapasitas produksi jenis serta konsen-trasi asam organik dan aktivitas fosfatase dari BPF merupakan salah satu penentu kualitas isolat BPF sebagai pupuk hayati. Telah diisolasi 6 isolat BPF dari berbagai rizosfir tanaman. Fokus penelitian adalah karakterisasi aktifitas dan produksi enzim fosfatase dari enam isolat BPF *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas mallei*, *P. cepaceae*, BPF 2 Banten, BPF AVM kering, dan BPF AVM lembab. Metode analisis kapasitas produksi enzim fosfatase ditentukan berdasarkan metoda Eivzy dan Tabatai, dan kapasitas produksi asam organik menggunakan HPLC. Dari ke enam isolat BPF yang diuji diperoleh dua isolat yang paling potensial adalah *Pseudomonas cepacea* dengan aktivitas enzim fosfatase sebesar 0,211 $\mu\text{M g}^{-1}$ dan lembab mampu menghasilkan asam organik total sebesar 6,4 ppm. Kedua isolat tersebut merupakan isolat paling potensial sebagai inokulan pupuk hayati *P. cepacea* merupakan paling unggul dalam meningkatkan panjang akar tanaman, rasio berat kering tajuk-akar, dan P terlarut pada media kultur cair tanaman jagung.

Kata kunci: Asam organik, bakteri pelarut fosfat, fosfatase, tanaman jagung

ABSTRACT

Phosphate Solubilizing Bacteria (PSB) is of bacteria that important in the mineralization process of organic P compounds into inorganic P compounds and increase phosphate available. The production capacity of the type and concentration of organic acids and phosphatase activity of a group of PSB is one determinant of the quality of the PSB isolates as biofertilizer. There were 6 isolates PSB have been isolated from various plant rhizosphere. The focus of the study is to characterize the enzyme phosphatase activity and production of six isolates PSB i.e. *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas mallei*, *P. cepaceae*, PSB 2 Banten, dry AVM PSB, and PSB AVM moist. The method of analysis phosphatase enzyme production capacity is determined according to the method Eivzy and Tabatai, and organic acids production capacity by HPLC. The six isolates PSB tested obtained two isolates with the most potential was *Pseudomonas cepacea* which the phosphatase enzyme activity was 0.211 $\mu\text{M g}^{-1}$ while AVM moist capable of producing organic acids total of 6.4 ppm. Both of these isolates are the isolates most potential as biofertilizer inoculants *P. cepacea* is the most superior in improving plant root length, ratio of plant-root dry weight, and P dissolved in a liquid culture medium corn crop

Key words: Organic acids, Phosphate Solubilizing Bacteria, phosphatase, corn plant

PENDAHULUAN

Lahan marjinal merupakan salah satu sumberdaya lahan yang prospektif untuk mendukung pengembangan areal tanaman jagung. Jagung adalah salah satu komoditas strategis setelah padi karena dibutuhkan dalam jumlah yang besar dan sudah menjadi bahan baku industri. Diperkirakan masih terdapat sekitar 6,1 juta ha lahan kering yang dapat dimanfaatkan untuk perluasan areal tanam jagung. Lahan-lahan yang tersedia tergolong jenis tanah *Inceptisols*, *Ultisols*, *Oxisols* dan sedikit *Mollisols* dan *Alfisols*. Lahan-lahan tersebut mempunyai kesuburan rendah, bereaksi masam atau terlalu basa, dan berbahan organik rendah. Dalam pemanfaatannya diperlukan teknologi pengelolaan lahan yang optimal yang berwawasan lingkungan. Konsep *Integrated Plant Nutrient Management* telah mulai dikembangkan untuk menunjang pertanian berkelanjutan. Konsep ini menekankan kepada pemeliharaan kesuburan tanah dengan mengoptimalkan seluruh sumber nutrisi tanaman baik anorganik maupun organik. Dengan mengaplikasikan konsep ini, berarti input pertanian akan berbeda untuk setiap sistem budidaya dan kondisi lahan. Pertanian yang berkelanjutan mensyaratkan optimasi dalam penggunaan lahan dan manajemen kesuburan kimia, fisik dan biologi yang berkaitan dengan proses biologi tanah dan biodiversitas flora maupun fauna tanah. Dalam kaitannya dengan keberadaan mikroba tanah, potensinya dirasakan penting untuk mempertahankan kualitas tanah melalui antara lain pemberian mikroba potensial yang dikenal sebagai pupuk hayati.

Konsep optimasi pemanfaatan keragaman hayati yang memiliki potensi tinggi sebagai pupuk hayati dalam meningkatkan status hara makro N dan P serta mengurangi kebutuhan pupuk anorganik dan meningkatkan hasil tanaman pangan secara *low input sustainable agriculture* (LISA) pada tanah marginal telah dikembangkan di lab. Biologi Tanah Universitas Padjadjaran sejak tahun 2000. Dari serangkaian penelitian yang telah dilakukan dalam kurun waktu lebih dari sepuluh tahun, didapatkan isolat-isolat bakteri yang menguntungkan (*Benefit Soil Microorganisms*) yang diisolasi dari rizosfer berbagai tanaman pangan dan hortikultura dan berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati.

Pada lahan kering marjinal, kendala dalam pemanfaatannya yaitu tingkat kemasaman tanah yang tinggi dan P-tersedia yang rendah serta kandungan Al dan Fe tinggi. Ketersediaan P yang rendah ini disebabkan adanya fiksasi P yang tinggi oleh mineral Al dan Fe sehingga sulit diserap tanaman (Stevenson, 1986). Fosfor pada tanah-tanah tropis banyak ditemukan dalam bentuk organik. Bentuk P organik sangat beragam,

kompleks dan sebagian besar tidak dapat dikarakterisasi (Anderson, 1980). Stevenson (1986) mengemukakan bahwa antara 15 sampai dengan 80 % P di dalam tanah ditemukan dalam bentuk organik. Sarapatka (2003) menambahkan bahwa rata-rata kandungan P organik di dalam tanah berkisar antara 5 sampai 50 % dari total P. Kandungan P organik tanah yang cukup tinggi tersebut merupakan sumber ketersediaan P yang potensial bagi tanaman. Namun demikian, P dalam bentuk organik tidak dapat segera digunakan oleh tanaman, tetapi perlu ditransformasi terlebih dahulu menjadi bentuk P anorganik melalui proses mineralisasi yang dikatalisis oleh enzim tanah (Sylvia *et al.*, 2005).

Enzim tanah yang berperan dalam proses mineralisasi senyawa P organik menjadi P anorganik yaitu kelompok enzim yang dikenal dengan nama fosfatase (Zahir *et al.*, 2001; Cookson, 2002; Saparatka, 2003). Pemupukan fosfat anorganik pada tanah Ultisol mempunyai permasalahan utama yaitu rendahnya efektivitas pupuk P yaitu 10% hingga 30%, sehingga 70% hingga 90% pupuk P tetap berada di dalam tanah dan sulit diserap tanaman (Jones, 1982). Efisiensi pemupukan yang rendah menyebabkan jumlah pupuk P yang diberikan oleh petani semakin meningkat sehingga berpotensi menurunkan produktivitas lahan khususnya pada tanah masam sehingga penggunaannya perlu dikurangi dengan memanfaatkan pupuk hayati.

Efisiensi pupuk P dapat ditingkatkan dengan pemanfaatan mikroba pelarut fosfat. Mikroba tersebut selain dapat menghasilkan enzim fosfatase juga dapat mengeluarkan asam-asam organik. Asam-asam organik tersebut seperti: asam sitrat, glutamat, suksinat, tartarat, format, asetat, propionat, laktonat, glikonat dan fumarat (Rao, 1994). Asam-asam organik ini akan bereaksi dengan FePO_4 yang dapat membentuk khelat (kompleks stabil) dengan kation-kation pengikat P di dalam tanah seperti Fe^{3+} . Akibatnya dapat menurunkan reaktivitas ion-ion dan menyebabkan pelarutan yang efektif sehingga P yang terfiksasi dapat tersedia untuk tanaman. Fokus penelitian adalah karakterisasi aktivitas enzim fosfatase dan produksi asam organik dari enam isolat bakteri pelarut fosfat hasil isolasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 6 isolat bakteri pelarut fosfat yaitu *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas mallei*, *P. cepaceae*, BPF 2 Banten, BPF AVM kering, dan BPF AVM lembab koleksi Lab Biologi Tanah yang diisolasi dari berbagai rizosfir tanaman pangan dan sayuran serta dari tanah yang tererupsi Abu Vulkanik Merapi (AVM) dalam kondisi kering dan lembab.

Tahap penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan karakteristik 6 isolat bakteri pelarut fosfat tersebut adalah uji karakterisasi yaitu:

Uji kapasitas produksi enzim fosfatase dari 6 isolat bakteri pelarut fosfat

Kapasitas produksi enzim fosfatase adalah menentukan kuantitas fosfatase yang diproduksi pada kultur cair.

Analisis enzim fosfatase ditentukan berdasarkan metoda Eivzy dan Tabatai, yaitu dengan pemberian substrat *p*-nitrofenilfosfat sehingga senyawa *p*-nitrofenol yang terbentuk akibat aktivitas enzim kemudian terwarnai oleh larutan sodium hidroksida yang dapat ditera dengan spektrofotometer 400 nm (Margesin, 1996).

Uji produksi jenis asam organik dari 6 isolat bakteri pelarut fosfat.

Produksi asam organik dilakukan untuk menentukan kuantitas dan jenis asam organik yang dilepaskan ke dalam media cair yang mengandung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai P. anorganik sukar larut oleh 6 bakteri pelarut fosfat yaitu *Bacillus mycoides*, *P. pseudomonas mallei*, *P. cepaceae*, BPF 2 Banten, BPF AVM kering, dan BPF AVM lembab. dengan HPLC.

Uji hayati (bioassay) isolat bakteri pelarut fosfat pada tanaman jagung di dalam media kultur cair

Bioassay bakteri pelarut fosfat dilakukan dengan metode Murphy. Tabung reaksi 100 mL diisi dengan media Murphy cair 95 mL. Benih jagung disterilisasi dengan HgCl_2 0,2 % dan etanol 70 %, dikecambahkan pada cawan petri yang dialasi kertas merang steril yang telah dibasahi aquades steril. Benih dikecambahkan pada suhu 30°C selama 3 hari. Kecambah ditanam di media dengan bantuan kassa steril dan tabung penyangga. Tanaman dipelihara di rumah kaca selama 2 minggu. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok diulang 5 kali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kapasitas pelarutan P oleh asam-asam organik dan enzim fosfatase bakteri pelarut fosfat

Karakteristik kemampuan isolat bakteri pelarut P dapat dilihat dari kemampuan produksi enzim fosfatase dan produksi jenis-jenis asam organiknya. Kapasitas pelarutan P dari mineral anorganik oleh bakteri pelarut fosfat sangat tergantung dari konsentrasi dan jenis asam organik yang diekskresikannya, sedangkan pelarutan P dari senyawa organik tergantung dari kapasitas katalisa enzim fosfatase yang diproduksi oleh bakteri pelarut fosfat tersebut.

Kapasitas pelarutan P tidak tersedia menjadi P terlarut akibat aktivitas Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) melalui enzim fosfatase dan asam-asam organik dari berbagai isolat BPF koleksi Lab Biologi Tanah ditunjukkan pada Tabel 1.

Pada Tabel 1, terlihat bakteri *Pseudomonas cepaceae* mempunyai kemampuan yang tinggi dalam menghasilkan enzim fosfatase yaitu sebesar 0,211 uM/g lebih besar dua kali lipat dibandingkan yang dihasilkan isolat BPF lainnya. Sedangkan kandungan asam-asam organiknya tidak lebih baik dari isolat lainnya. Produksi enzim fosfatase yang tinggi akan membantu proses mineralisasi P organik pada proses pelarutan P organik. Lain halnya BPF AVM Lembab, walaupun kandungan enzim fosfatasanya hanya 0,084 $\mu\text{M/g}$ tetapi mempunyai kandungan asam laktat yang paling tinggi dan total asam-asam organik yang tinggi pula. Total asam-asam organik

Tabel 1. Hasil analisis fosfatase dan jenis asam organik Bakteri Pelarut Fosfat

N0.	Nama Bakteri	Fosfatase (uM/g)	Tartarat (ppm)	Malat (ppm)	Succinat (ppm)	Laktat (ppm)	Asetat (ppm)
1	<i>Pseudomonas cepaceae</i>	0.211	1.2	0.2	0.0	1.1	0.4
2	<i>P. maleii</i>	0.104	1.4	0.1	0.2	1.4	0.9
3	<i>Bacillus mycoides</i>	0.095	1.6	1.2	0.1	1.6	1.2
4	BPF 2 Banten	0.075	0.9	1.4	0.0	1.9	1.9
5	BPF AVM Kering	0.012	2.1	0.9	0.0	2.1	1.0
6	BPF AVM Lembab	0.084	1.2	0.4	0.0	4.3	0.5

yang dihasilkan oleh BPF AVM lembab diharapkan dapat membantu proses meningkatkan ketersediaan P anorganik yang tidak tersedia.

Uji hayati (*bioassay*) bakteri pelarut fosfat pada tanaman jagung di dalam media kultur cair

Dari hasil analisis bioassay yang dilakukan diperoleh isolat bakteri pelarut P yang digunakan adalah bakteri pelarut fosfat *Pseudomonas cepaceae* dan BPF AVM Lembab. Dari kedua species tersebut dilakukan uji hayati atau bioassay untuk mengetahui karakteristik dan efek isolat kedua kelompok bakteri tersebut. Hasil uji hayati sinergisme ditampilkan pada Tabel 2. Dari isolat yang diujikan untuk tiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap berat daun dan berat akar tanaman jagung.

Tabel 2. Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat terhadap Berat Kering Tajuk, Berat Kering Akar, dan Rasio Berat Kering Tajuk-Akar Jagung

Perlakuan	Berat Kering Tajuk (g)	Berat Kering Akar (g)	Rasio Berat Kering Tajuk-Akar
Tanpa BPF	0,13 a	0,06 a	1,96 b
<i>P. cepaceae</i>	0,12 a	0,06 a	1,96 b
BPF AVM Lembab	0,10 a	0,07 a	1,42 ab

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Inokulasi BPF *Pseudomonas cepaceae* maupun BPF AVM Lembab tidak terlalu berpengaruh terhadap berat kering daun maupun akar jagung. BPF AVM Lembab cenderung menurunkan rasio berat kering Tajuk-Akar, tetapi cenderung meningkatkan berat kering akar, meskipun peningkatannya tidak signifikan. Rasio berat kering Tajuk-Akar menggambarkan perkembangan tanaman ke arah tajuk atau akar. Tampaknya tanaman jagung yang diinokulasi BPF AVM Lembab cenderung meningkat bobot akarnya dibandingkan tajuk. P terlarut dari P anorganik akibat aktivitas asam-asam organik yang dihasilkan BPF AVM Lembab yang diserap akar tanaman dapat meningkatkan bobot akar.

Hasil analisis efek bakteri pelarut fosfat terhadap tinggi tanaman dan panjang akar ditampilkan pada Tabel 3. Tidak terjadi perbedaan nyata antar perlakuan kedua isolat BPF terhadap tinggi tanaman, walaupun BPF AVM Lembab cenderung meningkatkan tinggi tanaman jagung. Tetapi terdapat perbedaan nyata antar perlakuan konsorsium terhadap panjang akar.

Dari data tersebut menunjukkan bahwa bakteri pelarut fosfat *Pseudomonas cepaceae* mampu secara mandiri meningkatkan panjang akar, sedangkan bakteri pelarut P tidak mampu meningkatkan panjang akar. Dari hasil analisis tersebut dapat dikatakan bahwa isolat yang potensial meningkatkan panjang akar adalah *Pseudomonas cepaceae*. Bila panjang akar yang dihasilkan *Pseudomonas cepaceae* dikaitkan dengan bobot akarnya yang tidak tinggi, maka dapat disimpulkan bahwa akar yang dihasilkan tanaman jagung yang diinokulasi BPF tersebut mempunyai akar panjang yang halus. Panjang akar lebih menentukan dari pada bobot akar dalam menyerap nutrisi. Menurut Mohsin dan Alfonzo (1990), P yang sifatnya immobile akan meningkat penyerapannya apabila jarak kontak antara P dengan akar diperpendek. Jarak kontak yang dekat dengan sumber P di dalam tanah tersebut dapat diatasi dengan perpanjangan akar.

Tabel 3. Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat terhadap Tinggi Tanaman dan panjang akar Jagung selama 12 Hari.

Perlakuan	Tinggi Tanaman (cm)	Panjang Akar Tanaman (cm)
Tanpa BPF	16,60 a	2,25 a
<i>P. cepaceae</i>	16,70 a	7,50 c
BPF AVM	19,03 a	3,80 ab

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Aktivitas bakteri pelarut fosfat berpengaruh meningkatkan kandungan fosfatase, asam laktat, dan P terlarut dalam medium cair pertumbuhan tanaman jagung (Tabel 4).

Hasil percobaan menunjukkan bahwa kandungan fosfatase pada medium yang diberi inokulan BPF nyata lebih tinggi dibandingkan media tanpa BPF. Pemberian BPF ini sangat nyata meningkatkan kandungan fosfatase media. Pada Tabel 4 dapat dilihat bahwa kandungan fosfatase pada perlakuan BPF meningkat sepuluh kali lipat dibandingkan perlakuan tanpa BPF. Akan tetapi kedua isolat BPF ini tidak menunjukkan perbedaan dalam meningkatkan produksi enzim fosfatase. Kemampuan memproduksi enzim fosfatase tergantung dari jenis BPF, biomassa dan sumber energi yang diberikan. Menurut Dinesh *et al.*, (2000) biomassa mikroba dan aktivitas enzim fosfatase bergantung dari sumber energi yang ada di dalam media. Produksi enzim fosfatase dapat meningkat setelah penambahan sumber energi yang berasal dari bahan organik.

Tabel 4. Pengaruh Inokulasi Bakteri Pelarut Fosfat terhadap Produksi Fosfatase, Asam Laktat, dan P Terlarut dalam Media Kultur Cair Tanaman Jagung

Perlakuan	Fosfatase (mg/mL)	Asam Laktat (mg/mL)	P Terlarut (ppm)
Tanpa BPF	0,01 a	0,71 a	23,23 a
<i>P. cepaceae</i>	0,10 b	5,77 b	25,17 c
BPF AVM Lembab	0,10 b	5,02 b	24,13 b

Keterangan: Nilai rata-rata pada kolom yang sama yang ditandai dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%.

Sedangkan menurut Sarapatka (2002) aktivitas fosfatase sangat dipengaruhi oleh kandungan nitrogen media. Dijelaskan lebih lanjut bahwa peningkatan kandungan nitrogen media dapat meningkatkan aktivitas fosfatase di dalam media. Sedangkan dari hasil penelitian Fitriatin *et al.* (2008) menunjukkan bahwa pH medium memengaruhi aktivitas fosfatase.

Kandungan asam organik berupa asam laktat nyata peningkatannya akibat pemberian BPF pada media kultur cair tanaman jagung. BPF. Kedua isolat BPF tersebut tidak menunjukkan perbedaan dalam meningkatkan produksi asam laktat (asam organik). Kemampuan BPF dalam menghasilkan asam-asam organik sangat beragam tergantung dari jenis mikroba, daya adaptasi, hingga kemampuan dalam memproduksi enzim (Whitelaw, 2000). Mikroba pelarut fosfat mensekresikan sejumlah asam organik antara lain asam-asam format, asetat, propionat, laktonat, glikolat, fumarat, laktat dan suksinat yang mampu membentuk khelat dengan kation-kation seperti Al dan Fe sehingga berpengaruh terhadap pelarutan fosfat yang efektif sehingga P menjadi tersedia dan dapat diserap oleh tanaman (Rao, 1994). P terlarut yang dihasilkan oleh kedua jenis BPF nyata lebih tinggi dibandingkan tanpa pemberian isolat BPF. *P. cepaceae* menghasilkan P terlarut lebih tinggi dibandingkan dengan BPF AVM Lembab walaupun besarnya enzim fosfatase dan asam organik (asam laktat) yang dihasilkannya sama dengan BPF AVM Lembab. Perbedaan tersebut diduga karena jenis asam-asam organik yang dihasilkannya berbeda sehingga kemampuan asam-asam organik tersebut dalam mengkhelat pengikat P akan berbeda pula. Asam laktat merupakan salah satu jenis asam organik yang dihasilkan BPF, tetapi masih banyak jenis asam-asam organik lainnya yang diduga kuantitasnya tidak sama. Menurut Whitelaw (2000), BPF dapat mensekresikan asam-asam organik yang dapat membentuk senyawa kompleks yang sukar larut. Terbentuknya senyawa kompleks ini akan menyebabkan fiksasi P menurun sehingga meningkatkan P-tersedia.

SIMPULAN

Dari ke enam isolat BPF yang diuji diperoleh dua isolat yang paling potensial yang diekspresikan dengan Aktivitas fosfatase dan produksi asam organik adalah *P. cepaceae* dan BPF AVM lembab yang lebih baik daripada isolat lainnya. Di dalam kultur cair

dengan tanaman jagung, BPF *P. cepaceae* paling baik dalam meningkatkan panjang akar tanaman, rasio berat kering tajuk-akar, dan P terlarut pada media kultur cair tanaman jagung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional yang telah mendanai penelitian ini melalui program Kompetensi Laboratorium melalui Bantuan Dana DIPa BLU Universitas Padjadjaran No. 3057/UN6.RKT/HK/2011, tanggal 18 Mei 2011. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Ray Hambali dan Leonardo yang telah membantu dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, G. 1980. Assessing organic phosphorus in soils. In : Khasawneh, F.E., Sample, E.C., Kamprath, E.J. (Eds.), The role of Phosphorus in Agriculture, American Society of Agronomy, Madison, pp.411-432.
- Cookson, P. 2002. Variation in Phosphatase Activity in Soil : A case study. Agricultural Sciences 7 (1): 65-72.
- Dinesh, R., & Dubey, R.P., Ganeshamurthy, A.N., and P. Shyam. 2000. Organic manuring in rice-based cropping system: Effects on soil microbial biomass and selected enzyme activities. Current Science, 79: 12.
- Fitriatin, B.N., Joy, B., & Subroto, T. 2008. The Influence of Organic Phosphorous Substrate on Phosphatase Activity of Soil Microbes. 2008. Proceeding International Seminar of Chemistry. 30-31 October, Indonesia
- Jones, U.S. 1982. Fertilizer and Soil Fertility. Second edition. Virginia: Reston Publ. Co. Reston.
- Margesin, R. 1996. Acid and alkaline phosphomonoesterase activity with the substrate p-nitrophenyl phosphate. p. 213-217. In: F. Schinner, R. Ohlinger, E. Kandeler, and R. Margesin (ed.). Methodes in Soil Biology, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Mohsin, M & Alfonzo. M.M. 1990. Role of Rhizosphere Microorganism in The Solubilization and Uptake of Phosphorus from a Venezuelan Phosphate Rock by Sorgum Plants in Acid Soil. Departement of Chemistry. School of Science Universidad de Oriete, Cumana 6101A, Venezuela: Estado Sucre.
- Rao, S. 1994. Mikroorganisme Tanah Dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: Ed 2. UI-Press.

- Saparatka, B. 2002. Phosphatase activity of Eutric cambisols (upland, Sweeden) in relation to soil properties and farming systems. Original paper published in *Acta Agriculturae Bohemica*, 33 (1): 18-24
- Sylvia, D., Hartel, P., Fuhrmann, J. & Zuberer, D. 2005. Principles and applications of soil microbiology. Second Edition. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey.
- Stevenson, F.J., 1986. Cycles of Soil Carbon, Nitrogen, Phosphorus, Sulfur, Micronutrient.
- Whitelaw. 2000. Growth promotion of plants inoculated with phosphate solubilizing fungi. *Adv. Agron*, 69: 99-151.
- Zahir, A.Z. Malik, A.R.M. and Arshad, M. 2001. Soil Enzymes Research: A Review. *J. Biol. Sci.* 1: 299-301.